

FTAMP 65.63.03

А.Ж. Оразов¹ – негізгі автор, | ©
А.С. Жумағалиева², Ж.Ж. Қойшыева³, Л.А. Надточий⁴



¹Техн. ғылым. канд., доцент м.а.,^{2,3}Магистр, оқытушы,
⁴Техн. ғылым. канд., доцент

ORCID

¹<https://orcid.org/0000-0003-2191-1295>²<https://orcid.org/0009-0002-1233-799X>
³<https://orcid.org/0000-0001-9193-7226>⁴<https://orcid.org/0000-0002-4678-8177>



^{1,2,3}Жаңгір хан атындағы Батыс Қазақстан аграрлық-техникалық
университеті, Орал қ., Қазақстан

⁴Санкт-Петербург мемлекеттік химия-фармацевтикалық университеті,
Санкт-Петербург қ., Ресей



¹orazov_ayan@mail.ru

<https://doi.org/10.55956/GRQA4117>

ШҰБАТ ҚҰРАМЫНДАҒЫ СҰТҚЫШҚЫЛДЫ БАКТЕРИЯЛАР МЕН АШЫТҚЫЛАРДЫ ИДЕНТИФИКАЦИЯЛАУ

Андатпа. Адам тамақтануындағы қышқыл сүт өнімдерінің маңыздылығын асырып айту мүмкін емес. Сиыр сүті өнімдерін өндірудегі ферментативті процестер туралы көптеген ғылыми еңбектер болғанымен, түйе сүтіне негізделген ұлттық қышқыл сүт өнімдері туралы зерттеулер жеткіліксіз. Әлемде түйе сүтіне негізделген ұлттық қышқыл сүт сусындардың көпшілігі аралас ашу нәтижесінен алынатын өнімдер болып табылады. Сүтқышқылды және спиртті ашу процестерін әлемнің ғалымдары толық зерттеді, дегенмен бұл процестердің ерекшелігі оның негізгі қоздырғыштары ретінде сүтқышқылды бактериялары мен ашытқылардың таза өсімділерінің түрлік ерекшеліктерімен анықталады. Әр түрлі тұтынушылық қасиеттері бар қышқыл сүт өнімдерінің кең ассортиментін қамтамасыз ететін таза сүтқышқылды бактериялары мен ашытқылар өсімділерінің алуан түрлілігіне қарамастан, әлемдік ғылыми қауымдастық сүтқышқылды бактериялары мен ашытқылардың жаңа түрлерін іздеп табуға және зерттеуге деген қызығушылығы зор. Шұбаттың табиғи микрофлорасына тән сүтқышқылды бактериялары мен ашытқылардың түрлік құрамын анықтау үшін олардың таза өсімділерін оқшаулау және оларды одан әрі идентификациялау бойынша зерттеу жүргізілді. Өздігінен ашу нәтижесінде алынған шұбаттың табиғи микрофлорасы *Lactobacillus plantarum*, *Lactococcus lactis*, *Streptococcus thermophilus* сүтқышқылды бактерияларынан және *Brettanomyces anomalus*, *Naumovozyma castellii*, *Candida kefir* және *Kazachstania unispora* ашытқыларынан тұрады. Бұл бағыттағы қосымша зерттеулер әртүрлі микроорганизмдердің өзара әрекеттесу механизмін түсінуге ғана емес, сонымен қатар түйе сүтін қайта өңдеудің жаңа технологияларын жасап, көптеген адамдардың рационын бірегей және пайдалы тағамдармен байытуға әкеледі.

Тірек сөздер: шұбат, сүтқышқылды бактериялар, ашытқылар, идентификациялау, қышқыл сүт өнімі, түйе шаруашылығы.



Оразов, А.Ж. Шұбат құрамындағы сүтқышқылды бактериялар мен ашытқыларды идентификациялау [Мәтін] / А.Ж. Оразов, А.С. Жумағалиева, Ж.Ж. Қойшыева, Л.А. Надточий // Механика және технологиялар / Ғылыми журнал. – 2024. – №3(85). – Б.128-139. <https://doi.org/10.55956/GRQA4117>

Кіріспе. Қышқыл сүт өнімдері диеталық және емдік қасиеттеріне байланысты сүтке қарағанда құнды болып саналады, ал олардың ассортименттері алуан түрлі. Әр түрлі қышқыл сүт өнімдері адамның тағамдық рационына айтарлықтай әсер етеді, бұл ферменттеу процесінде микроорганизмдердің емдік-профилактикалық әсерімен және сүт шикізатының бастапқы компоненттерінің сүт қышқылы, көмірқышқыл газы, алкоголь және т.б. өнімдеріге дейінгі ыдырау нәтижесіндегі биохимиялық өзгерістерімен түсіндіріледі [1].

Қышқыл сүт өнімдерінің ерекше дәміне, қажетті құрылымына және қауіпсіз өнім болуына байланысты әлемде оларды тұтыну үрдісі өсуде. Сүт және қышқыл сүт өнімдерінің тағамдық құндылығы олардың қоректік құрамынан ғана емес, сонымен қатар қоректік заттардың қол жетімділігі мен сіңімділігіне де байланысты болады [2].

Соңғы ғылыми-техникалық жетістіктер қышқыл сүт өнімдерінің тағамдық және емдік маңыздылығы сүтқышқылды микроорганизмдер өсінділері, көптеген метаболиттері мен ферменттерін қолдану, олардың өндіріс процесінде кейбір бактерицидтік қасиеттерге ие болуымен түсіндіріледі. Өсінділер шығаратын бактериоциндер деп аталатын табиғи антибиотиктер ішектегі патогендік бактерияларды тежейді. Мысалы, құрамында *Lactobacillus acidophilus* бар өнімдер шығаратын антибиотик ацидофилин әртүрлі патогендік бактериялардың 50% тежейтіні дәлелденді. *Salmonella* мен *Shigella* инфекцияларымен уланған балалар, ацидофильді сүтті қолдану арқылы барлық белгілерден жазылды [3].

Қышқыл сүт өнімдері асқазан-ішек жолдарына әсер ету функциясына байланысты сүтпен салыстырғанда оңай сіңетіні белгілі, бұл қоректік заттардың ас қорыту процестерін жеделдететін бірқатар ферменттердің синтезіне әкеледі. Қышқыл сүт өнімдерінің оң әсері адамның ас қорыту жолдарының (перистальтика) белсенділігіне әсерімен байланысты. Сонымен қатар, аралас ашу нәтижесінде алынған қышқыл сүт өнімдері өздеріне тән жағымды, сергітетін және сәл қышқыл (щиплющий вкус) дәмінің болуына байланысты жоғары тұтынушылық қасиеттерге ие [4,5].

Әлемдік ғылыми қауымдастық, күнделікті рационның бөлігі ретінде қышқыл сүт өнімдерін тұтыну адам ағзасына бірқатар маңызды заттарды, атап айтқанда спирттік мен сүт қышқылды ашу нәтижесінде синтезделетін дәрумендерді кешенді қамтамасыз ету арқылы пайдалы әсер ететінін растайды [6].

Түйе сүтінің өнімдері Африканың, Азияның және Таяу Шығыстың байырғы тұрғындарының тамақтануында маңызды рөл атқаратыны анық. Осы аймақтардың халқы үшін түйе сүті және оның негізіндегі қышқыл сүт өнімдері энергия мен биологиялық белсенді заттардың негізгі көзі болып табылады [7].

Түйе сүті негізіндегі дәстүрлі қышқыл сүт өнімдері бастапқы шикізатты, яғни сүтті алдын-ала термиялық өңдеусіз және ашытқы қоспай өздігінен ашиды. Әлемнің әр аймағында қышқыл сүт өнімдері әртүрлі аталады, мысалы Сомалиде мұндай қышқыл сүт өнімдерін «*garucc/gariss*» (қышқыл) деп атаса, Суданда *hameedh* немесе *humadah* қышқыл дегенді білдіреді. «*Suusac*» – Шығыс Африкада, Кенияда және Сомалиде танымал түйе сүтінен жасалған қышқыл сүт сусынның тағы бір түрі. Түркия мен Қазақстанда «*чал/chal*» және «*shubat*» сұранысқа ие. Түркияда ол түркі сусыны ретінде кеңінен танымал, ал Қазақстан мен Түрікменстанда бұл халықтық медицинада емдік мақсатта кеңінен қолданылатын танымал

сергіткіш сусын [8.9]. Жоғарыда сипатталған сусындардың органолептикалық қасиеттері ұқсас, олар ақ түсті, айқын хош иісті және тұтқыр, қышқыл дәммен және төмен тұтқырлықпен сипатталады. Бұл өнімдердің ерекшелігі –аралас ашу нәтижесінде құрамында спирт пен CO_2 болуы және қышқылдықтың жоғары көрсеткіші [10].

Дәстүрлі қышқыл сүт өнімдерінің асортименті мен сапасын кеңейтуге үлкен мүмкіндіктер бар. Мақалада шұбаттың микрофлорасын, сүт өнеркәсібінде қолданылуы мүмкін сүт қышқылды бактериялары мен ашытқылардың таза өсінділерін зерттеуге назар аударылған.

Зерттеу шарттары мен әдістері. Зерттелетін үлгілердің органолептикалық көрсеткіштерін бағалау үшін олар сыртқы түрі, түсі, консистенциясы, дәмі мен иісі бағаланды, осы мақсатта таза және құрғақ Петри шыныаяқтарына (оның көлемінің жартысына жуығы) шұбат құйылды, үлгілер ақ бетке қойылып, тексерілді, ал түсін, шыны ыдысқа салып өнім стандартының көмегімен (көлеңкеден түспеуін ескере отырып) бағаланды.

Үлгілердің консистенциясын анық бағалауға мүмкіндік беретін мөлдір түссіз сыйымдылықты пайдалана отырып жүргізіледі.

Сыртқы түрі мен консистенциясын бағалау оның біртектілігі, түйіршіктердің, тұндырылған кілегей немесе тұнбаның болуы немесе болмауы көрсеткіштері бойынша жүргізіледі. Визуалды анықтау кезінде ақуыз үлпектері, сүттің қышқылдығының жоғарылауын көрсетеді. Зерттелетін үлгінің бетінде бөлінген май бөлшектері болған жағдайда, оны біртекті консистенцияға дейін мұқият шайқау керек. Бұл жағдайда консистенцияның біртекті болмауы, өнімнің ескіргенін немесе оның бұрмаланғанын көрсетеді.

Үлгілердің иісі колба ашылғаннан кейін бірден анықталады. Әрі қарай, үлгінің $20 \pm 2 \text{ см}^3$ көлемін құрғақ, таза стаканға 20°C температурада құйылып, дәмі бағаланады. Дәм сезгіштігін қалпына келтіру үшін әр үлгіден кейін ауыз қуысын жылы сумен шаю керек.

Зерттелетін үлгілердің физика-химиялық көрсеткіштерін анықтау жалпы қабылданған зерттеу әдістеріне сәйкес жүргізілді:

- майдың массалық үлесі – ГОСТ 5867-90;
- ақуыздың массалық үлесі – ГОСТ 25179-2014;
- құрғақ заттардың массалық үлесі – ГОСТ 3626-73;
- тығыздығы – ГОСТ 3625-84;
- криоскопиялық температура – ГОСТ 25101-2015;
- спирт (алкоголь) мөлшері – ГОСТ 31454-2012;
- көмірқышқыл газын (CO_2) сандық анықтау ГОСТ 32038-2012 бойынша.

Зерттелетін үлгілердің микробиологиялық көрсеткіштерін зерттеу келесі әдістерді қолдана отырып жүргізілді:

- *Salmonella* тұқымдасының бактерияларын анықтау ГОСТ 31639-2012 бойынша;
- *S. Aureus* анықтау ГОСТ 30347-2016 сәйкес; Энтерококктардың санын анықтау ГОСТ 28566-90 сәйкес;
- сүт қышқылды микроорганизмдерінің санын анықтау ГОСТ 33951-2016 және ГОСТ Р 56139-2014 сәйкес;
- ашытқылар санын анықтау ГОСТ 10444.12-2013 сәйкес.

Сүтқышқылды бактериялар мен ашытқыларды өсіру және оқшаулау келесідей жүргізілді: зерттелетін үлгілер 9 мл тұзды ерітіндіде сұйылтылды.

Ол үшін 9 мл тұзды ерітіндіден 10 түтік дайындалды. Стерильді тамшуырман 1 см³ көлемінде 1 мл зерттелетін үлгі алынып, бірінші түтікшеге құйылды, үлгіні араластыру үшін түтік шайқалды, содан кейін бірінші түтіктен 1 мл алынып, келесі түтікке құйылды, осылай оныншы түтікке дейін қайталанады.

Қоректік ортаға егу үшін 10⁻³-тен 10⁻¹⁰-ға дейін сұйылтылған дайын үлгілер қолданылды. Осылайша, әрбір кейінгі сұйылтудағы микробтық жасушалардың саны алдыңғыға қарағанда азайып және соңғы түтіктердің бірінде оқшауланған микробтық культура қалады деп болжанады. Микроорганизмдерді қоректік ортаға егу үлгілерді бөгде микроорганизмдермен ластамау үшін, бокста мүмкіндігінше тез, оттық жалынының жанында жүргізілді.

Петри шыныаяқтарына қоректік ортаны құюдың терең әдісі қолданылды, онда зерттелетін материалдың 1 см³ бос стерильді Петри табақшасына тамшуырман жағылды. Балқытылған және 45-50°C дейін салқындатылған қоректік ортасы бар колбадан, асептикалық құю ережелерін сақтай отырып, қақпақты сәл ашып, балқытылған ортаны стерильді шыныаяқтарға қалыңдығы 3-5 мм біркелкі қабатпен құйылды.

Микроағзалардың таза өсінділерді бөліп алғаннан кейін сүтқышқылды бактериялар мен ашытқыны *Illumina MiSeq* көмегімен сәйкестендіру жүргізілді. Зерттелетін үлгі ашытқыларының ДНҚ-сын оқшаулау үшін өндіруші - Macherey-Nagel (Германия) компаниясының нұсқауларына сәйкес реактивтер жиынтығы (Macherey-Nagel, NucleoSpin Soil) пайдаланылды. 16S рРНҚ генінің секвенациялау микробтық қауымдастықтардың құрамын сандық бағалаудың және жеке штамдарды молекулалық анықтаудың басым әдісі болып табылады. Бұл әдіс микробиотаның құрамын талдаудың «эталонды стандарты» болып саналады [11].

Әрбір зерттелген үлгі ITS1F/ITS2 праймерлерін (GCATCGATGAAGAACGCAGC / TCCTCCGCTTATTGATATGC) пайдалана отырып, ПТР (полимеразалық тізбек реакция) әдісімен алынған сүтқышқылды бактериялардың рибосомалық оперондарының (ITS2) фрагменттерін ескере отырып, ампликонды талдау негізінде сүтқышқылды бактериялардың қауымдастығының таксономиялық құрамын анықтады. Амплификация режимі: 95□ – 10 мин, полимеразаны белсендендіру; 95□ – 60 с; 55□ – 30 с; 72□ – 120 с. Бактериялық қауымдастықтың таксономиялық талдауы микроорганизмдердің кең ауқымына тән 16SpРНҚv3-v4 (GTGCCAGCMGCCGCGGTAA /GGACTACVSGGGTATCTAAT, генінің өзгермелі аймағына әмбебап F515 /R806 праймерлерін қолдану арқылы жүргізілді. Бұл аймақтар реттілік ұзындығы мен қамту тереңдігі арасындағы тепе-теңдікті қамтамасыз етіп, таксономиялық классификацияға қол жеткізу үшін, ең консервативті аймақтардың бірін (V4) ең өзгермелі аймақтардың бірімен (V3) біріктіреді [12].

Зерттелетін үлгілер фрагменттерінің нуклеотидтер тізбегін талдау екі жақты оқылатын (2*300н) MiSeq® ReagentKit v3 (600 cycle) реактивтер жиынтығын пайдалана отырып, «Illumina MiSeq» (АҚШ) құрылғысында Illumina компаниясының технологиясы бойынша жүзеге асырылды. Алынған тізбектерді өңдеу Illumina, «Trimmomatic» пакеті, 16S кітапханаларға арналған QIIME және ITS кітапханаларына арналған PIPITS бағдарламалық пакеті арқылы жүзеге асырылды.

Шартты ашытқылар мен бактериялық жасушалардың саны тиісті праймерлермен нақты уақыт режимінде тіркелген ПТР әдісімен анықталды. ПТР үшін «Bio-Rad» (АҚШ) фирмасының реактивтері пайдаланылды.

Зерттеу нәтижелері және оларды талқылау. Өздігінен ашу процесі нәтижесінде алынған шұбат кешенді зерттеу үшін органолептикалық, физика-химиялық және микробиологиялық зерттеулер мен метагеномдық талдау жүргізілді. Шұбат сусынының сапалық мен қауіпсіздік көрсеткіштерін бағалау ҚР СТ 117-2015 «Шұбат. Жалпы техникалық шарттар» сәйкес жүргізілді және 1,2-кестелерде көрсетілген көрсеткіштерге сәйкес болуы тиіс [13].

Кесте 1

Шұбаттың органолептикалық көрсеткіштері

Көрсеткіштің атауы	Сипаттамасы	Зерттеу нәтижелері
Сыртқы түрі мен консистенциясы	Сұйық, біртекті, газдалған, көпіретін	Сәйкес
Түсті	Сүт түстес ақ, сәл сарғыш реңкі бар	Сәйкес
Дәмі мен иісі	Таза, сүт қышқылды, сергіткіш, табиғи шұбатқа тән өзіндік дәм мен иіс, бөгде дәмдері мен иістері жоқ	Сәйкес

1-кестеде өнімнің органолептикалық көрсеткіштері көрсетілген, оның дәмі мен иісі жеңіл сергітетін және ерекше «таза қышқыл сүт» өніміне сәйкес, ал консистенциясы біртекті сұйықтық. Зерттеу нәтижесінде өнімнің жарамдылық мерзімі ұлғайған сайын өткір дәмге, алкогольдік иіске, CO₂ газының көп бөлінуіне жауап беретін ашытқылардың саны артатыны анықталды, бұл 1 айдан бастап дәстүрлі өнімге тән.

Алынған нәтижелер зерттелетін үлгінің қышқылдығы және ондағы спирттің массалық үлесі ҚР СТ 177-2015 ұсынылған нормаларға сәйкес келетіндігін, өнімдегі ақуыз бен майдың мөлшері ең төменгі шекті мәндерден тиісінше 0,5% және 1,1% жоғары болғандығын көрсетті. Зерттеу нәтижесінде үлгідегі құрғақ заттардың мөлшері 9,6%; алкоголь (спирт) 1,3% және белсенді қышқылдық орташа рН=4,1 болғандығы анықталды. Сонымен қатар, өнімдегі құрғақ заттардың, көмірқышқыл газының массалық үлесі, сондай-ақ белсенді қышқылдық көрсеткіші туралы ақпараттар ҚР СТ 117-2015 қарастырылмаған, бұл зерттеу нысанын осы көрсеткіштер бойынша бағалауды қиындатады. Әдеби деректерге сүйене отырып, шұбатта этил спиртінің мөлшері қымыздан салыстырмалы түрде аз концентрациясы бар деп айтуға болады, бұл бие сүтімен салыстырғанда түйе сүтіндегі лактозаның аз мөлшерімен байланысты [14].

Кесте 2

Шұбаттың физика-химиялық көрсеткіштері

Көрсеткіштің атауы	ҚР СТ 117-2015		Зерттеу нәтижелері
	Бір тәуліктік	1-3 ай сақтауға арналған	
1	2	3	4
Қышқылдығы, °Т	100 дейін 150		120±0,05
Белсенді қышқылдылығы, рН*	-		4,1±0,1
Ақуыздың массалық үлесі, %	4,1 кем емес		4,6±0,07
Майдың массалық үлесі, %	3,2 кем емес		4,3 ±0,1
Спирттің массалық үлесі, %	0,5	1,0-1,2	1,1±0,3
Құрғақ заттар, %*	-		9,6±0,03
CO ₂ , %*	-		1,3±0,02

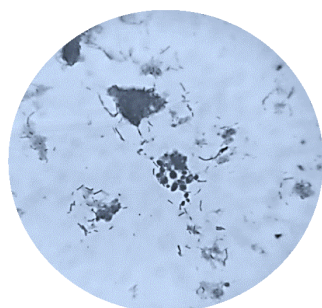
2-кестенің жалғасы

1	2	3	4
Фосфотаза	жок		сәйкес
Кәсіпорыннан шығару кезіндегі температурасы, °С, жоғары емес	4±2		сәйкес
* көрсеткіштер ҚР СТ 117-2015 қарастырылмаған.			

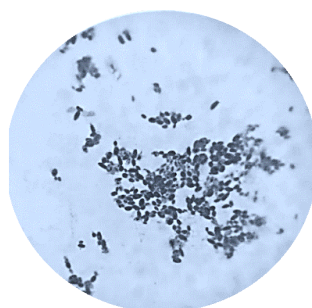
Кестедегі көрсеткіштерге сүйене отырып, үлгіде ашытқы белсенді дамыған, ал зерттелген шұбат сақтауға арналған деп болжауға болады. Сонымен қатар, ашытқы ретінде қолданылатын шұбат және де оны дәстүрлі дайындау технологиясы мен консервілеу дайын өнімнің химиялық құрамына әсер етуі мүмкін. Мысалы, бірнеше ай бойы консервіленген шұбат қышқыл сүт өнімінің қышқылдығын төмендетіп, оның құрамын нашарлатады [15].

Шұбат үлгісінің микробиологиялық көрсеткіштерін бағалау үшін оның табиғи микрофлорасын сандық және сапалық бағалау арқылы (КТБ (колония түзуші бірліктер) саны, ашытқылардың микроскопиялық үлгісі) жүргізілді. Осы кезеңдегі зерттеулер микроорганизмдердің санын сұйылту әдісімен анықтау, оларды қоректік ортада өсіріп, содан кейін колонияларды санау арқылы анықталды. Өскен колониялардың сандық есебін Горяев камерасында, колониялардың өсу заңдылықтарын анықтау мақсатында жүргізілді.

Қышқыл сүт өнімі – шұбат микрофлорасын анықтау үшін жаңадан дайындалған сусынның микроскопиялық препаратын дайындау жүргізілді, зерттеу нәтижелері 1а суретте көрсетілген. ҚР СТ 177-2015 сәйкес 30 тәулік бойы сақтау процесінде қышқыл сүт сусынының микробиологиялық көрсеткіштерінің (сүт қышқылы микроорганизмдерінің, ашытқылардың саны) өзгеруі 1б суретте көрсетілген. Шұбатты сақтау процесінде ашытқылар мөлшері көбейетіні анық, ол өнімде қарқынды түрде газ түзілуіне әкеледі, мұндай құбылыс жаңа дайындалған ашытылған өнімде аз байқалады.



а)



б)

Сурет 1. Сақтау процесінде өздігінен ашу процесі нәтижесінде алынған шұбаттың микроскопиялық препараттары, тәулік: 1 күн (а), 30 күн (б)

1-суреттегі зерттеу нәтижесіне сәйкес шұбат микрофлорасы негізінен сүт қышқылды стрептококктарынан, термофильді сүт қышқылды таяқшаларынан және ашытқыдан тұрады. Сүттегі осы микроорганизмдердің бір мезгілде дамуымен олардың арасындағы сандық қатынас культивациялау температурасына байланысты белгілі бір заңдылықпен өзгереді: алдымен жылдам көбею нәтижесінде стрептококктардың белсенді дамуы жүреді (70-

80%), ашыту процесі барысында арақатынас өзгеріп (стрептококктар дамуы бәсеңдеп, ал таяқшалар көбейеді). Ферменттеудің басында ашытқылар шамамен 5% құрайды, бірақ сақтау (жетілу) процесінде өнімнің жарамдылық мерзімінің соңында сүтқышқылы бактерияларының біртіндеп азаюына байланысты олар белсенді түрде көбейе бастайды. Жаңа дайындалған өнімнің микроскопиялық препараты (сурет. 1а) негізінен сүтқышқылды таяқшаларымен көрсетілген, олар жекеленген және жұптасып, қысқа тізбектерде орналасқан, аз мөлшерде дөңгелек және сопақша-жұмыртқа тәрізді ашытқылар бар, олар шағын топтарда орналасқан. Зерттеу жұмыстарының 30-шы күні микроскопиялық препаратта шұбат сақтау процесінде дамитын ашытқылардың едәуір мөлшері байқалады (сурет. 1б). Алайда, бұл зерттеу әдісі визуалды және микроорганизмдерді толық зерттеуді қажет етеді.

Тауар өндірушілер үшін өндірілетін өнім сапасынан кейінгі басым бағыттардың бірі дайын өнімнің қауіпсіздігі болып табылады. Қышқыл сүт өнімдерінің, оның ішінде ұлттық өнімдердің қауіпсіздігі нормативті техникалық құжаттарда (НТҚ) белгіленген микробиологиялық нормаларға сәйкес анықталады. Осы тәжірибе барысында шұбат қауіпсіздігінің келесідей микробиологиялық көрсеткіштер зерттелді: сүтқышқылы микроорганизмдер, ашытқылар, энтерококктар және патогенді микроорганизмдерінің саны (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecium*). Алынған нәтижелер 3-кестеде және 2 суретте келтірілген.

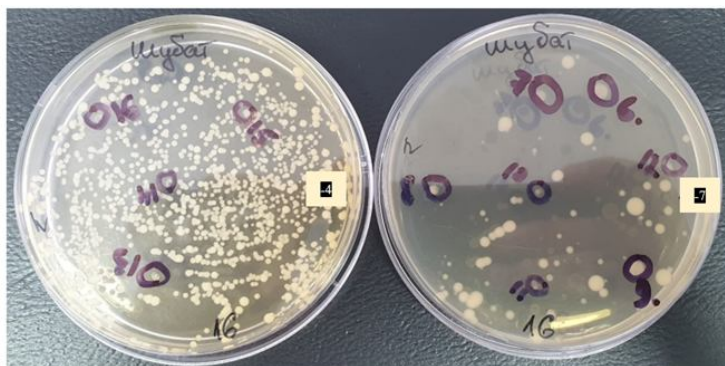
Кесте 3

Өздігінен ашу процесі нәтижесінде алынған шұбат микробиологиялық көрсеткіштері

Көрсеткіштің атауы	НТҚ сәйкес	Көрсеткіштердің нормаланған мәндері	Зерттеу нәтижелері
<i>Escherichiacoli</i>	ГОСТ 10444.1 5-94	Рұқсат етілмейді	$1,4 \times 10^6$ КТБ/г
<i>S. aureus</i>	ГОСТ 30347-2016	Рұқсат етілмейді	Табылған жоқ
<i>Enterococcus faecium</i>	ГОСТ 28566-90	Рұқсат етілмейді	$2,8 \times 10^4$ КТБ/г
Сүтқышқылы микроорганизмдер	ГОСТ 33951-2016	1×10^7 КТБ/г кем емес	$1,9 \times 10^7$ КТБ/г
Ашытқылар	ГОСТ 10444.1 2-13	1×10^3 КТБ/г кем емес	$5,6 \times 10^3$ КТБ/г

Шұбат құрамындағы сүтқышқылды бактерияларының жалпы санының орташа логарифмі $1,93 \times 10^7$ және ашытқылар $5,6 \times 10^3$ болды, бұл дәстүрлі түрде дайындалған шұбат құрамындағы микроорганизмдердің жеткілікті жоғары санын көрсетеді. Сонымен қатар, шұбатта колиформды бактериялар табылды. Зерттелетін үлгіде патогендік және шартты-патогендік микроорганизмдердің болуы шаруа қожалығындағы санитарлық-гигиеналық жағдайлардың төмендігіне байланысты болуы мүмкін, бұл микроорганизмдер пайдаланылған қосалқы материалдар мен керек-жарақтарды (шелек, сүт

жинауға арналған бидон, дәтүрлі түрде шұбат дайындауға арналған кәстрөлдер) сауу кезінде гигиена ережелерін сақтамау салдарынан болуы мүмкін [14,15].



Сурет 2. MRS (de Man, Rogosa и Sharpe agar) қоректік ортасында шұбатты
культивациялау
(10^{-4} және 10^{-7} дәрежесіндегі сұйылтулар)

Өздігінен ашу нәтижесінде алынған шұбат өсіру таза сүтқышқылды бактериялар өсінділері мен ашытқыларды оқшаулау үшін қатты қоректік ортаға культивациялап, культивациялау уақыты аяқталғаннан кейін колониялардың саны есептелді. 2-суретте 10^{-4} және 10^{-7} дәрежесіндегі сұйылтуларда культивациялау кезінде сүтқышқылды бактериялары мен ашытқылар колониялары таза дақылдарының өсуі көрсетілген.

Түйе сүті мен оның негізіндегі қышқыл сүт өнімдерінің микрофлорасын идентификациялаумен айналысқан әлемдік ғалымдардың әдеби деректерін салыстыру кезінде шұбат микрофлорасын зерттеу нәтижелерінде сүт қышқылды бактериялар мен ашытқылардың айтарлықтай ұқсастығы анықталды [18,19]. Салыстырмалы деректер 4-кестеде келтірілген.

Кесте 4

Түйе сүтінің және оның негізіндегі қышқыл сүт өнімдерінің басым
микрофлорасын салыстыру

Атауы	Әлемдік зерттеулер	Зерттеу нәтижелері
1	2	3
Гомоферментативтілактококктар	<i>Lactococcus lactis subsp. lactis</i>	<i>Lactococcuslactis</i>
	<i>Lactococcuslactissubsp. cremoris</i>	-
	<i>Leuconostocmesenteroidessubsp. cremoris</i>	-
	<i>Leuconostocmesenteroides subsp. dextranicum</i>	-
	<i>Leuconostocmesenteroides</i>	<i>Leuconostocmesenteroides</i>
Термофильдістрептококктар	<i>Streptococcus thermophilus</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>
	<i>Streptococcuslactis</i>	-
Лактобактериялар (мезофильдіжәнетермофильді)	<i>Lactobacillus kefir</i>	-
	<i>Lactobacillus casei subsp. casei</i>	-
	<i>Lactobacillus casei subsp.</i>	-

	<i>rhamnosus</i>	
	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Lactobacillusplantarum</i>
	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	-
	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> <i>subsp. bulgaricus</i>	-
	<i>Lactobacillus helveticus</i>	-
	<i>Lactobacillus fermentum</i>	-

4-кестенің жалғасы

1	2	3
	-	<i>Candidakefyr</i>
Ашытқы	-	<i>Brettanomycesanomalous</i>
	-	<i>Kazachstaniaunispora</i>
	-	<i>Naumovozymacastellii</i>

Аралас ашу нәтижесінде алынған шұбат қауіпсіздігінің микробиологиялық көрсеткіштерін зерттеу, шұбатты дәстүрлі дайындаудың әдісі, дайын шұбатты ашытқы ретінде консервілеу және пайдалану, одан әрі тұтыну қауіпсіз емес деген қорытынды жасауға мүмкіндік береді. Осы мақсатта, шұбат микрофлорасын таңдау үшін заманауи метагеномдық әдістерді қолдана отырып, микроорганизмдерді толық идентификациялау қажет.

Қорытынды.Профилактикалық қасиеті бар функционалды қышқыл сүт сусынын әзірлеу мақсатында сүт қышқылды бактерияларын анықтау үшін өздігінен ашытылатын шұбат микрофлорасы зерттелді. Морфологиялық, биохимиялық және 16S рРНКv3-v4 ПТР көмегімен генетикалық идентификациялау сипаттамаларына сүйене отырып таза сүтқышқылды бактериялар дақылдарының түрлері (*Lactococcus Lactis*; *Streptococcus thermophilus*; *Lactobacillus plantarum* және *Leuconostoc mesenteroides*) және ашытқылар (*Candida kefyr*; *Kazachstania unispora*; *Brettanomyces anomalous* және *Naumovozyma castellii*) қышқыл сүт өнімі шұбаттан бөлініп алынды. Бұл бактериялар асқазан-ішек жолына және жалпы адам денсаулығына оң әсер ететін ашытқылар мен пробиотикалық препараттарды жасауға негіз болатын микроорганизмдер тобына жатады. Олар тек медицинада ғана емес, сонымен қатар тағам өнеркәсібінде, атап айтқанда сүт өнеркәсібінде де қолданылады, өндіріс процесіне қатысады және өнімнің балғындылығын сақтап, жасанды консерванттарды қолдану қажеттілігін азайтады.

Әдебиеттергізімі

1. Горбатова, К.К. Биохимия молока и молочных продуктов [Текст] / К.К. Горбатова // М.: ГИОРД. – 2003. – 320 с.
2. Orazov A., Nadtochii L., Ryskaliyeva B., Maksot A., Ayupnabiyeva A. Prospects for using camel milk as an alternative to cow and goat milk // Science and education, 2023. No. 3(72). P. 3-11.
3. Батулин, А.К. Питание и здоровье: проблемы XXI века [Текст] / А.К. Батулин, Г.И. Мендельсон // Пищевая промышленность. – 2005. – №5. – С. 105-107.
4. Золотарева, М.С. Продукты переработки сыворотки в молочном производстве [Текст] / М.С. Золотарева // Молочная промышленность. – 2014. – № 2 (173). – С. 24-26.
5. Соловьева, Е.Е. Заквасочные культуры для производства молочных продуктов [Текст] / Е.Е. Соловьева // Молочная промышленность. – 2006. – № 11. – С. 50-55.

6. Губанов, Р.С. Современные тенденции развития производства молока и его реализации в России и за рубежом [Текст] / Р.С. Губанов // Экономика сельского хозяйства России. – 2015. – № 1. – С. 64-71.
7. Attia H., Kherouatou N., Dhouib A. Dromedary milk lactic acid fermentation: microbiological and rheological characteristics // Industrial Microbiol. Biotechnol. – 2001. – №26(5). – Pp. 263-270
8. Farah, Z. Preparation and consumer acceptability tests of fermented camel milk in Kenya [Текст] / Z. Farah, T. Streiff, M.R. Bachmann // Journal of Dairy Research, 1990. No. 57. P. 281-283.
9. Al-Tahiri R.A Comparison on microbial conditions between traditional dairy products sold in karak and same products produced by Modern Dairies // Pakistan Journal of Nutrition, 2005. No. 4(5). P. 345-348.
10. Занданова, Т.Н. Симбиотическая закваска для производства курунги [Текст] / Т.Н. Занданова, И.С. Хамагаева, Т.Е. Хурхесова // Пищевая промышленность (Сырье и добавки). – 2009. – №7. – С. 48-49.
11. Оберемок, В.В. Методические рекомендации к применению ПЦР метода [Текст]: методические указания / В.В. Оберемок. – Симферополь, 2008. – 35 с.
12. Зернов, Ю.П. Использование рестрикционного анализа амплифицированного гена 16S РНК для идентификации микроорганизмов на примере бактериальных продуцентов термостабильной щелочной фосфатазы [Текст] / Ю.П. Зернов, М.Л. Абдурашитов, С.Х. Дегтярев // Биотехнология. – 2005. – №6. – С. 3-11.
13. Comin D., Ravella L., Paiusco A., Mioni R. Sanitary evaluation of milk products in mountain dairies // Italian Journal of Food Safety, 2010. No. 7. P. 73-74.
14. Шидловская, В.П. Органолептические свойства молочных продуктов [Текст] / В.П. Шидловская // М.: Колос, 2004. – 545 с.
15. Данкверт, А.Г. О молоке и молочных продуктах [Текст] / А.Г. Данкверт, Т.Г. Джапаридзе // Главный зоотехник. – 2010. – № 4. – С. 31-34.
16. Зимичев, А.В. Кефирные грибки и закваски на их основе [Текст] / А.В. Зимичев // Молочная промышленность. – 2007. – №8. – С. 34-35.
17. Дмитриева, О. Энтерококки и специфичные к ним бактериофаги в составе кисломолочных продуктов [Текст] / О. Дмитриева, А. Райский, Н. Беясова // Наука и инновации. – 2012. – №2(108). – С. 17-21.
18. Carrasco M.S., Scarinci E.H., Simonetta A.C. Associative growth of lactic acid bacteria for cheese starter: Acidifying and proteolytic activities and redox potential development // Journal of Food Agriculture and Environment, 2005. No. 3(2). P. 116-119.
19. Guizani N., Kasapis S., Al-Ruzeiki M. Microbial, chemical and rheological properties of Laban (Cultured milk) // International Journal of Food Science & Technology, 2001. No. 36. P. 199-205.

Зерттеу Қазақстан Республикасы ЖБҒМ-ң Ғылым Комитетінің АР23490202 «Түйе сүтінен өңделген өнімдерден бөлініп алынған сүтқышқылды пробиотикалық штаммдар (Lactobacillus) негізінде кешенді биологиялық белсенді компонент әзірлеу» жобасы аясында жүргізілді.

Материал редакцияға 26.08.24 түсті.

А.Ж. Оразов¹, А.С. Жумағалиева¹, Ж.Ж. Койшиева¹, Л.А. Надточий²

¹Западно-Казахстанский аграрно-технический университет им. Жангир хана,
г. Уральск, Казахстан

²Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический
университет, Санкт-Петербург, Россия

ИДЕНТИФИКАЦИЯ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ И ДРОЖЖЕЙ ИЗ ШУБАТА

Аннотация. Значение кисломолочных продуктов для питания трудно переоценить. Несмотря на наличие множества научных исследований, посвященных ферментационным процессам в производстве молочных продуктов из коровьего молока, количество работ, в которых рассматриваются национальные кисломолочные продукты на основе верблюжьего молока ограничены. В мире большинство таких напитков представляют собой продукты смешанного брожения. Изучение молочнокислого и спиртового брожения получило достаточно широкую научную известность, однако особенности этого процесса в значительной мере зависят от видовых особенностей чистых культур молочнокислых бактерий и дрожжей, действующих как основных его возбудителей. Несмотря на разнообразие доступных культур, интерес к выявлению и исследованию новых видов молочнокислых бактерий и дрожжей продолжает расти. Для определения видового состава молочнокислых бактерий и дрожжей, характерных для нативной микрофлоры шубата, было проведено исследование по выделению чистых культур и их идентификации. Микрофлора шубата, полученного методом спонтанной ферментации, в основном включает *Lactobacillus plantarum*, *Lactococcus lactis*, *Streptococcus thermophilus*, а также дрожжи *Brettanomyces anomalus*, *Naumovozyma castellii*, *Candida kefir* и *Kazachstania unispora*, которые демонстрируют выраженные антагонистические свойства по отношению к *Escherichia coli*. Дальнейшие исследования в этой области помогут не только в понимании механизма взаимодействия между различными микроорганизмами, но и в создании новых подходов к использованию верблюжьего молока, что может привести к обогащению рациона многих людей уникальными и полезными продуктами.

Ключевые слова: шубат, молочнокислые бактерии, дрожжи, идентификация, кисломолочный продукт, верблюдоводство.

A.Zh. Orazov¹, A.S. Zhumagalieva¹, Zh.Zh. Koishieva¹, L.A. Nadtochii²

¹Zhangir Khan West Kazakhstan Agrarian and Technical University,
Uralsk, Kazakhstan

²Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University, St. Petersburg, Russia

IDENTIFICATION OF LACTIC ACID BACTERIA AND YEAST FROM SHUBAT

Abstract. The importance of fermented dairy products for human nutrition cannot be overestimated. Despite the existence of many scientific studies on fermentation processes in the production of dairy products from cow's milk, the number of works dealing with national fermented dairy products based on camel's milk is limited. Worldwide, most of these beverages are mixed fermentation products. The study of lactic acid and alcoholic fermentation has gained a fairly wide scientific popularity, but the peculiarities of this process depend largely on the species-specific characteristics of pure cultures of lactic acid bacteria and yeasts acting as its main causative agents. Despite the diversity of available cultures, there is a growing interest in identifying and studying new species of lactic acid bacteria and yeasts. To determine the species composition of lactic acid bacteria and yeasts characteristic of the native microflora of Shubat, a study was conducted to isolate pure cultures and identify them. The microflora of Shubat, produced by the method of spontaneous fermentation, mainly includes *Lactobacillus plantarum*, *Lactococcus lactis*, *Streptococcus thermophilus*, and the yeasts *Brettanomyces anomalus*, *Naumovozyma castellii*, *Candida kefir* and *Kazachstania unispora*, which have marked antagonistic properties towards *Escherichia coli*.

Keywords: shubat, lactic acid bacteria, yeast, identification, fermented dairy product, camel breeding.

References

1. Gorbatova, K.K. Biokhimiya molokaimolochnykh produktov [Biochemistry of milk and dairy products] // Moscow: GIOR. 2003. 320 p., [in Russian].
2. Orazov A., Nadtochii L., Ryskaliyeva B., Maksot A., Ayupnabiyeva A. Prospects for using camel milk as an alternative to cow and goat milk // Science and education, 2023. No. 3(72). P. 3-11.
3. Baturin A.K., Mendel'son G.I. Pitaniye iz dorov'ye: problemy XXI veka [Nutrition and health: problems of the 21st century] // Pishchevaya promyshlennost' [Food industry], 2005. No.5. P. 105-107, [in Russian].
4. Zolotareva M.S. Produkty pererabotki syvorotki v molochnom proizvodstve [Whey processing products in dairy production] // Molochnaya promyshlennost' [Dairy industry], 2014. No.2 (173). P. 24-26, [in Russian].
5. Solov'yeva E.E. Zakvasochnyye kul'tury dlya proizvodstva molochnykh produktov [Starter cultures for the production of dairy products] // Molochnaya promyshlennost' [Dairy industry], 2006. No.11. P. 50-55, [in Russian].
6. Gubanov R.S. Sovremennyye tendentsii razvitiya proizvodstva molokai yegorealizatsii v Rossii za rubezhom [Modern trends in the development of milk production and its sale in Russia and abroad] // Ekonomika sel'skogokhozyaystva Rossii [Economics of Agriculture in Russia], 2015. No.1. P. 64-71, [in Russian].
7. Attia H., Kherouatou N., Dhoub A. Dromedary milk lactic acid fermentation: microbiological and rheological characteristics [Text] // Industrial Microbiol. Biotechnol, 2001. No.26(5). P. 263-270.
8. Farah Z., Streiff T., Bachmann M.R. Preparation and consumer acceptability tests of fermented camel milk in Kenya // Journal of Dairy Research, 1990. No.57. P. 281-283.
9. Al-Tahiri R.A. Comparison on microbial conditions between traditional dairy products sold in Karak and same products produced by Modern Dairies // Pakistan Journal of Nutrition, 2005. No.4(5). P. 345-348.
10. Zandanova T.N., Khamagayeva I.S., Khurkhesova T.E. Simbioticheskaya zakvas kadlyaproduktov kurungi [Symbiotic starter for kurunga production] // Pishchevaya promyshlennost' (Syr'yeyidobavki) [Food industry (Raw materials and additives)], 2009. No.7. P. 48-49, [in Russian].
11. Oberemok, V.V. Metodicheskiye rekomendatsii k primeneniyu PTSR metoda [Methodical recommendations for the use of the PCR method]: methodical instructions. – Simferopol, 2008. – 35 p., [in Russian].
12. Zernov YU.P., Abdurashitov M.L., Degtyarev S.KH. Ispol'zovaniye restriksiionnogo analiza amplifitsirovannogo gena 16S RNK dlya identifikatsii mikroorganizmov na primere bakterial'nykh produktov termolabil'noy shchelochnoy fosfatazy [Use of restriction analysis of the amplified 16S RNA gene for the identification of microorganisms using the example of bacterial producers of thermolabile alkaline phosphatase] // Biotekhnologiya [Biotechnology], 2005. No. 6. P. 3-11, [in Russian].
13. Comin D., Ravella L., Paiusco A., Mioni R. Sanitary evaluation of milk products in mountain dairies // Italian Journal of Food Safety, 2010. No. 7. P. 73-74.
14. Shidlovskaya V.P. Organolepticheskiye svoystva molochnykh produktov [Organoleptic properties of dairy products]. – Moscow: Kolos, 2004. – 545 p., [in Russian].
15. Dankvert A.G., Dzhaparidze T.G. O molokeimolochnykh produktakh [About milk and dairy products] // Glavnyy zootekhnik [Chief zootechnician], 2010. No.4. P. 31-34, [in Russian].
16. Zimichev A.V. Kefirnyye griby i zakvaski na ikh osnove [Kefir fungi and starters based on them] // Molochnaya promyshlennost' [Dairy industry], 2007. No.8. P. 34-35, [in Russian].
17. Dmitriyeva O. Rayskiy A., Belyasova N. Enterokokki i spetsificheskiye k nim bakteriofagi v sostave kislomolochnykh produktov [Enterococci and specific bacteriophages in fermented milk products] // Nauka i innovatsii [Science and Innovation], 2012. No.2(108). P. 17-21, [in Russian].

18. Carrasco M.S., Scarinci E.H., Simonetta A.C. Associative growth of lactic acid bacteria for cheese starter: Acidifying and proteolytic activities and redox potential development // Journal of Food Agriculture and Environment, 2005. No. 3(2). P. 116-119.
19. Guizani N., Kasapis S., Al-Ruzeiki M. Microbial, chemical and rheological properties of Laban (Cultured milk) // International Journal of Food Science & Technology, 2001. No. 36. P. 199-205.